18 dicembre 2012

Dr Manuela Pegoraro
U.O.C. di Microbiologia e Virologia – sede BT, A.O.U.I. Verona
manuela.pegoraro@ospedaleuniverona.it

PARASSITOSI TISSUTALI

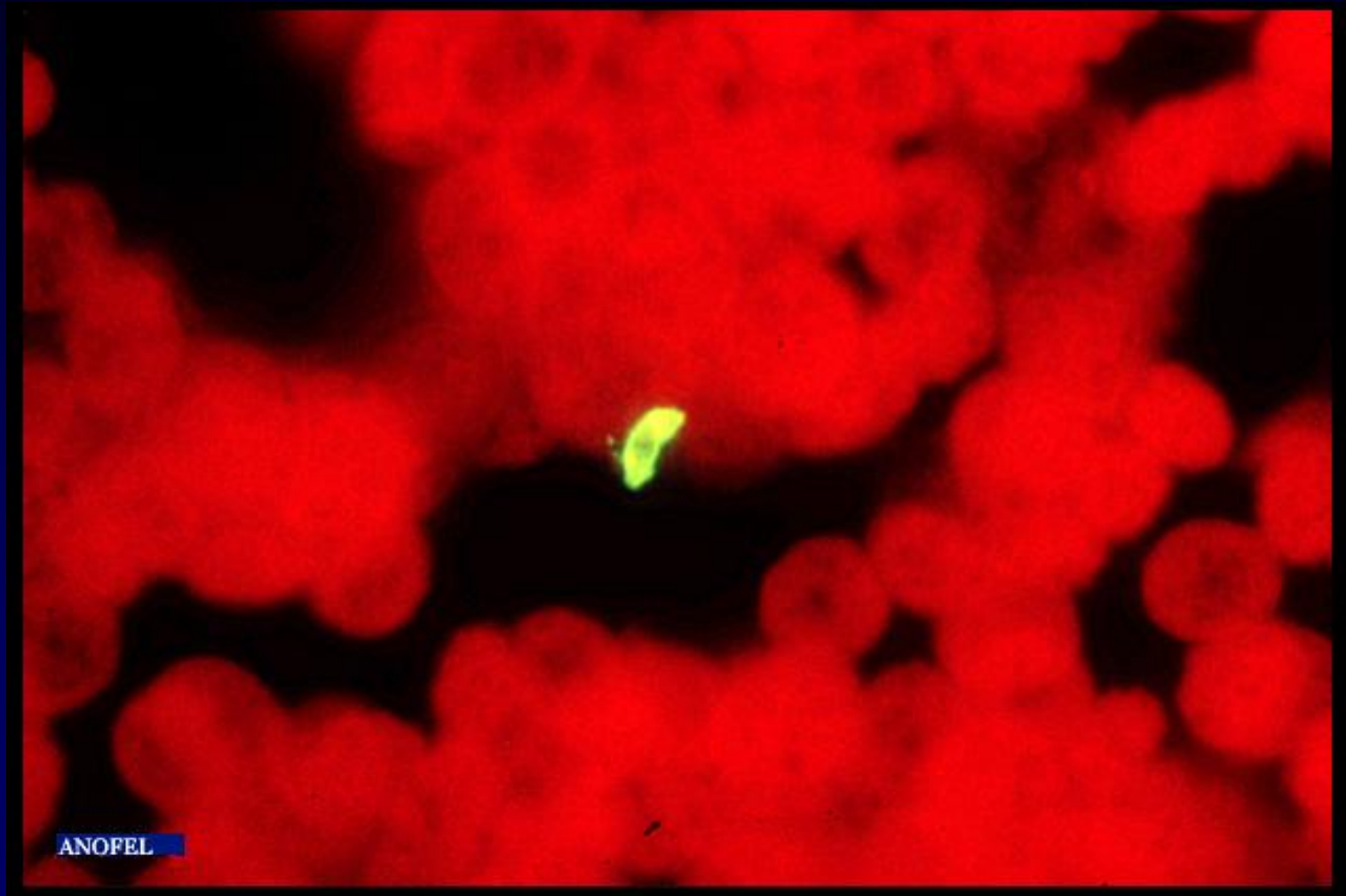
TOXOPLASMOSI

LEISHMANIOSI

TRIPANOSOMIASI

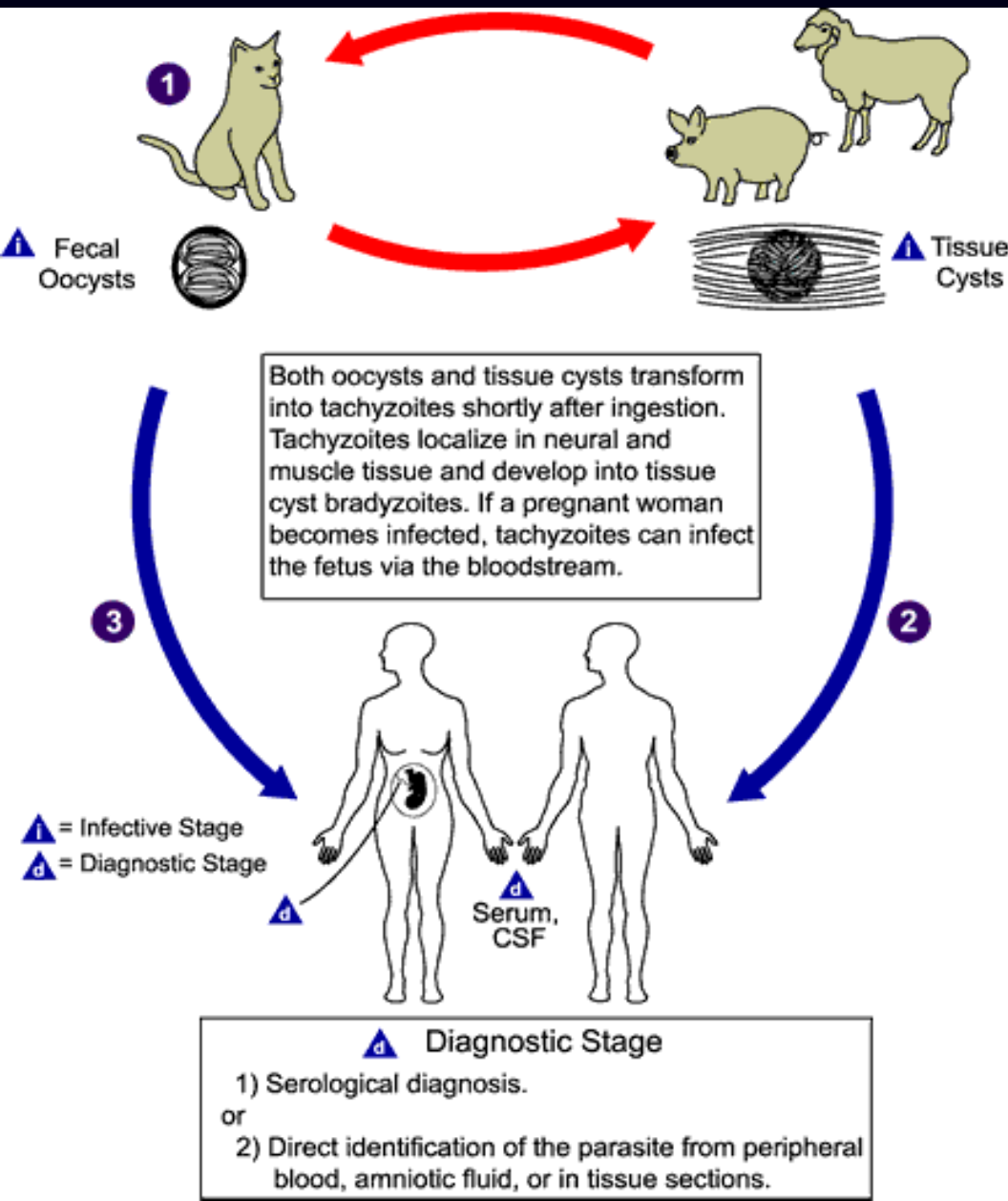
PRINCIPALI PROTOZOI di INTERESSE MEDICO

	PARASSITI	COMMENSALI
Flagellati	*Giardia intestinalis* *Dientamoeba fragilis* *Trichomonas vaginalis* *Leishmania spp* *Tripanosoma spp*	*Chilomastix mesnili* *Enteromonas hominis* *Retortomonas intestinalis* *Trichomonas hominis*
Amebe	*Entamoeba histolytica*	*Entamoeba dispar* *Entamoeba hartmanni* *Entamoeba coli* *Entamoeba polecki* *Endolimax nana* *Iodamoeba buetschlii* *Blastocystis hominis* *Entamoeba moshkovskii*
Sporozoi	*Plasmodium spp* *Toxoplasma gondii* *Cryptosporidium* spp *Isospora belli*	

TOXOPLASMOSI

dal punto di vista epidemiologico…

- ✓ infezione ubiquitaria (circa 2 miliardi i soggetti infetti);
- ✓ sieroprevalenza variabile tra il 70% (PVS e Francia) e il 10% (Paesi Scandinavi);
- ✓ in Italia è circa pari al 25%;

- ✓ n° di neonati infetti/nati vivi: 1-2/1000 in Francia; 0.1 – 1/1000 negli altri Paesi europei; 0.1/1000 negli USA;
- ✓ incidenza di malattia negli immunodepressi (HIV+);;

TOXOPLASMA GONDII: parassita obbligato dixeno;

gatto: ospite definitivo (realizzazione di entrambe le fasi del ciclo di sviluppo: sessuata e asessuata);

vertebrati (uomo, cani, maiali, roditori, uccelli, animali da cortile): ospiti intermedi (realizzazione della sola fase asessuata);

possibile la trasmissione del protozoo anche tra ospiti intermedi

tachizoiti: fase vegetativa in attiva moltiplicazione;

bradizoiti: fase di latenza, all'interno delle cisti tissutali;

sporozoiti: prodotto della r. sessuata, all'interno di oocisti mature;

ospite definitivo (gatto)

- infezione per ingestione di carne contaminata dalle cisti (bradizoiti);
- i bradizoiti invadono gli enterociti: moltiplicazione schizogonica o asessuata;
- fase sessuata: macro/microgameti → fecondazione → zigote;
- zigote → oocisti immatura che fuoriesce dall'enterocita e viene eliminata con le feci;

↓

maturazione delle oocisti nell'ambiente: oocisti mature contengono 2 sporocisti con ciascuna 4 sporozoiti

↳

ingestione oocisti

↗

ingestione carne contaminata da cisti (bradizoiti)

↑

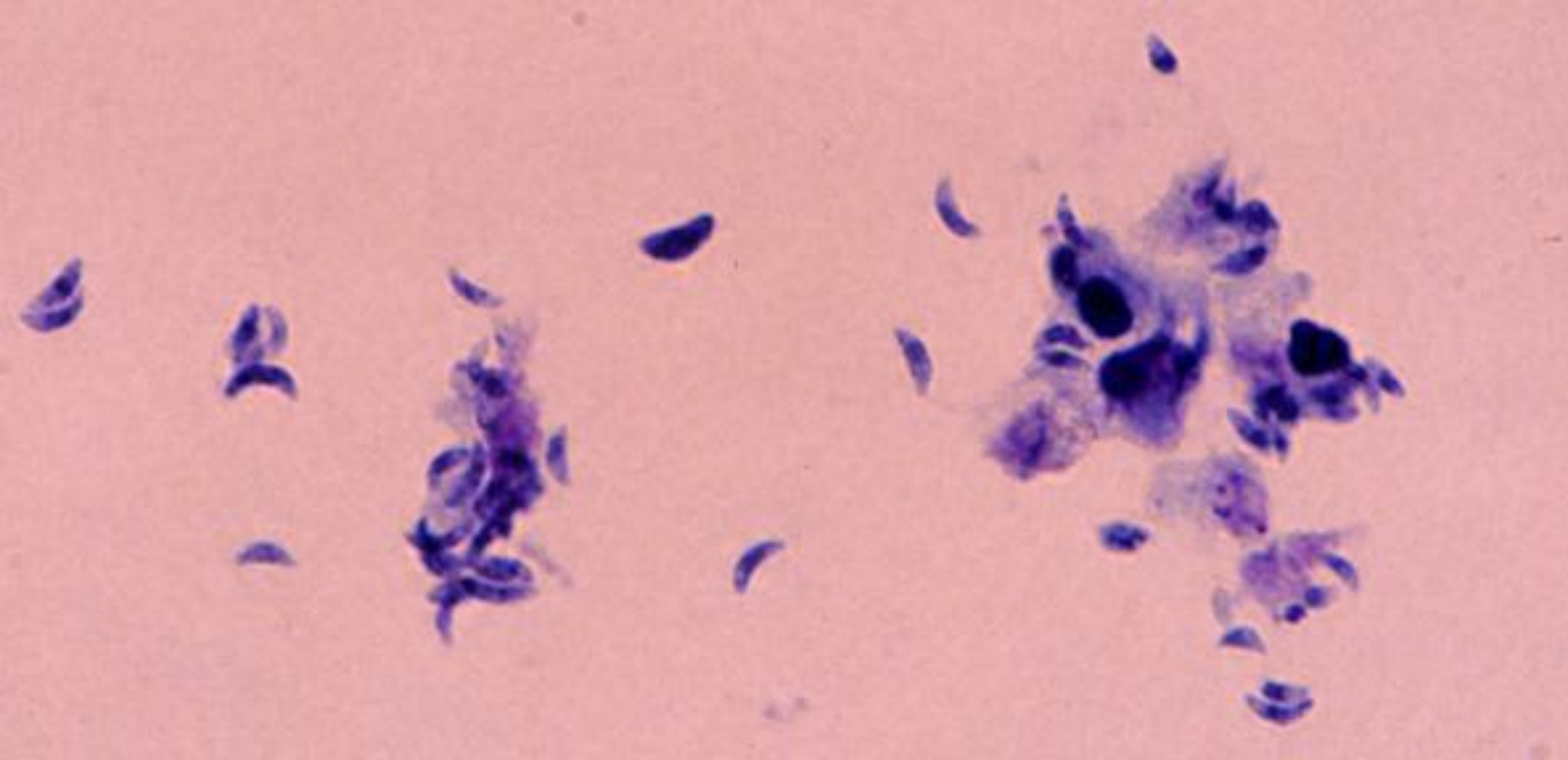
ospite intermedio

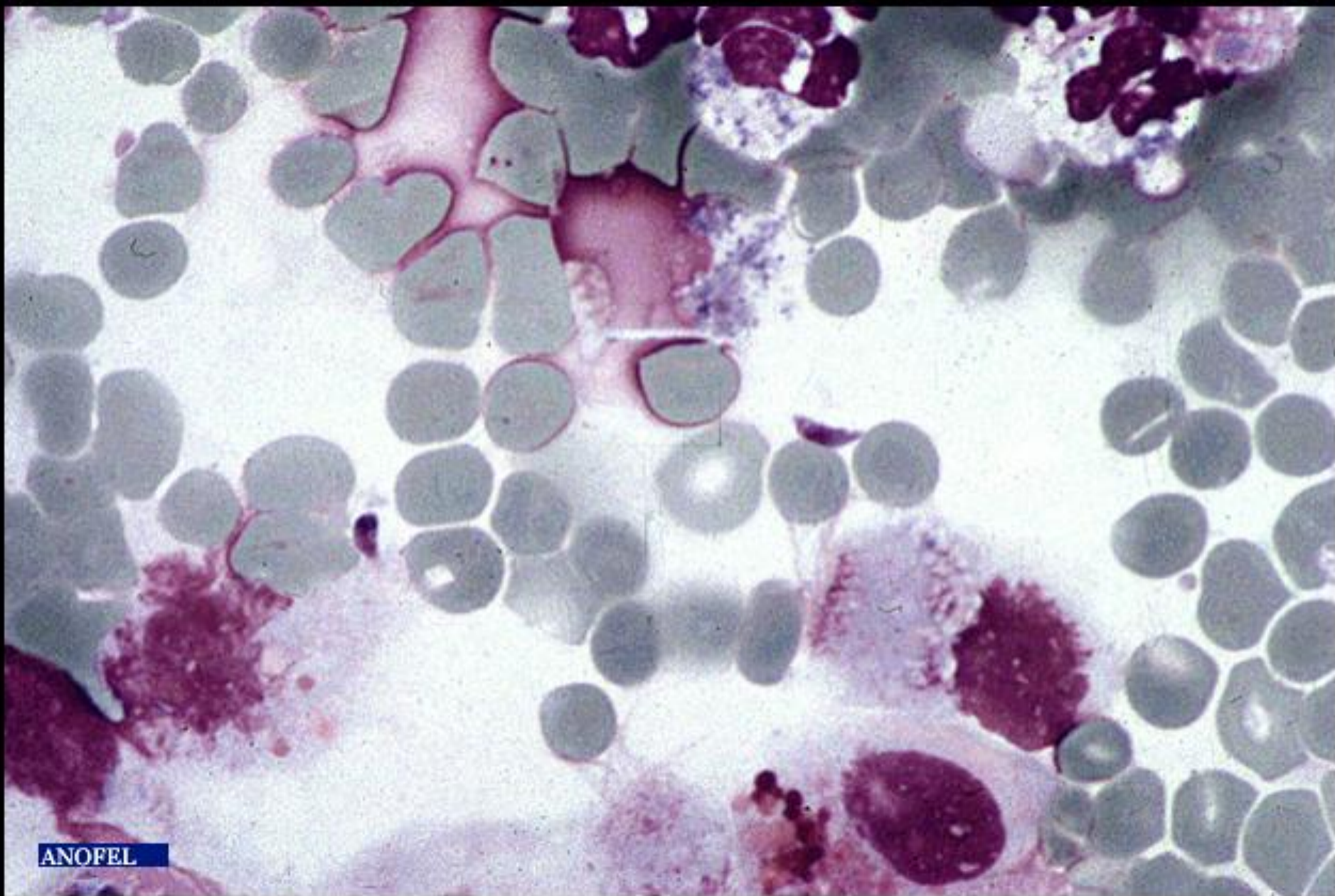
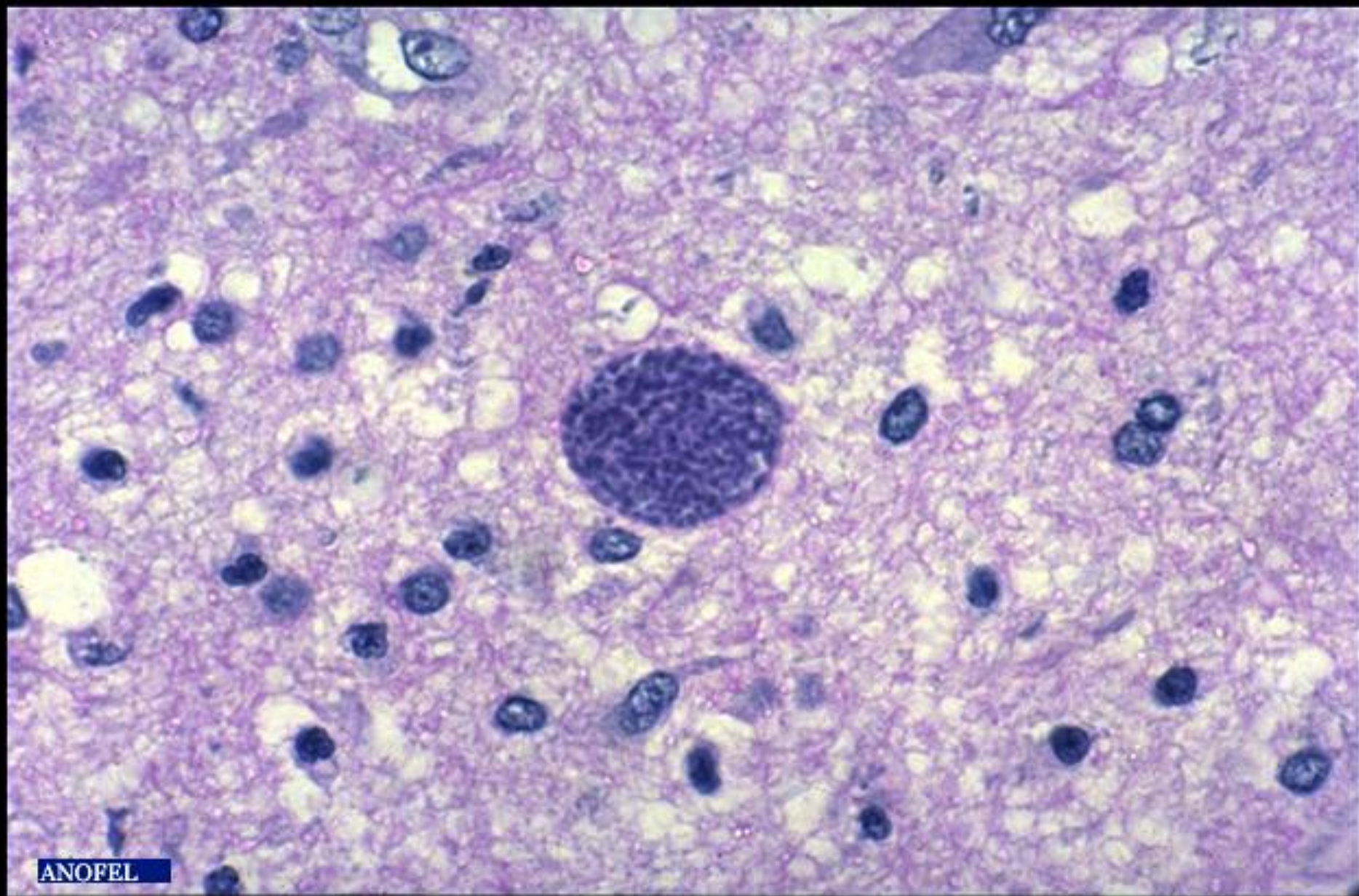
- sporozoiti /bradizoiti → tachizoiti: invasione degli enterociti e moltiplicazione per scissione binaria → lisi cellulare
- disseminazione per contiguità e a distanza (invasione cellule SRE)

↑

tachizoiti → bradizoiti: formazione di cisti (SNC, occhio, muscolatura striata compreso il miocardio

oocisti immature (10-12 μm)

oocisti matura con 2 sporocisti

tachizoiti di *Toxoplasma gondii*

- forma a mezzaluna;
- lunghezza circa 6 µm

ANOFEL

ANOFEL

ANOFEL

✓ trasmissione dell'infezione all'uomo

via orale: - ingestione di oocisti contaminanti l'acqua o gli alimenti, (contatto diretto con gatti);

×× ingestione di cisti contaminanti la carne di altri ospiti intermedi (più importante nei paesi industrializzati);

via transplacentare: per passaggio transplacentare dei tachizoiti durante la fase acuta dell'infezione;

per trapianto di organo solido (cuore) da donatore +/ricevente -

dal punto di vista patogenetico…

- fase acuta d'infezione: disseminazione sistemica dei tachizoiti per via linfo-ematica dopo una prima replicazione a livello intestinale; è legata alla mancanza di una risposta immunitaria specifica;

- fase cronica d'infezione: rallentamento della replicazione dei tachizoiti che si trasformano in bradizoiti, all'interno di cisti extracellulari, dove rimangono vitali per tutta la vita dell'ospite; è legata allo sviluppo di una risposta immunitaria specifica;

- riattivazione: trasformazione bradizoiti intracistici in tachizoiti e ripresa dell'attività replicativa; è legata alla compromissione dell'immunità cellulo-mediata (HIV+);

dal punto di vista clinico…

- **soggetto immunocompetente:** fase acuta e cronica sono spesso asintomatiche; nel 10% dei casi: linfoadenite cervico-occipitale e ascellare con febbre, mialgie, sudorazioni notturne;

- **soggetto immunocompromesso:** encefalite per riattivazione cisti latenti; ascessi multipli a livello di corteccia e dei nuclei della base (segni neurologici focali); polmonite e retinite;

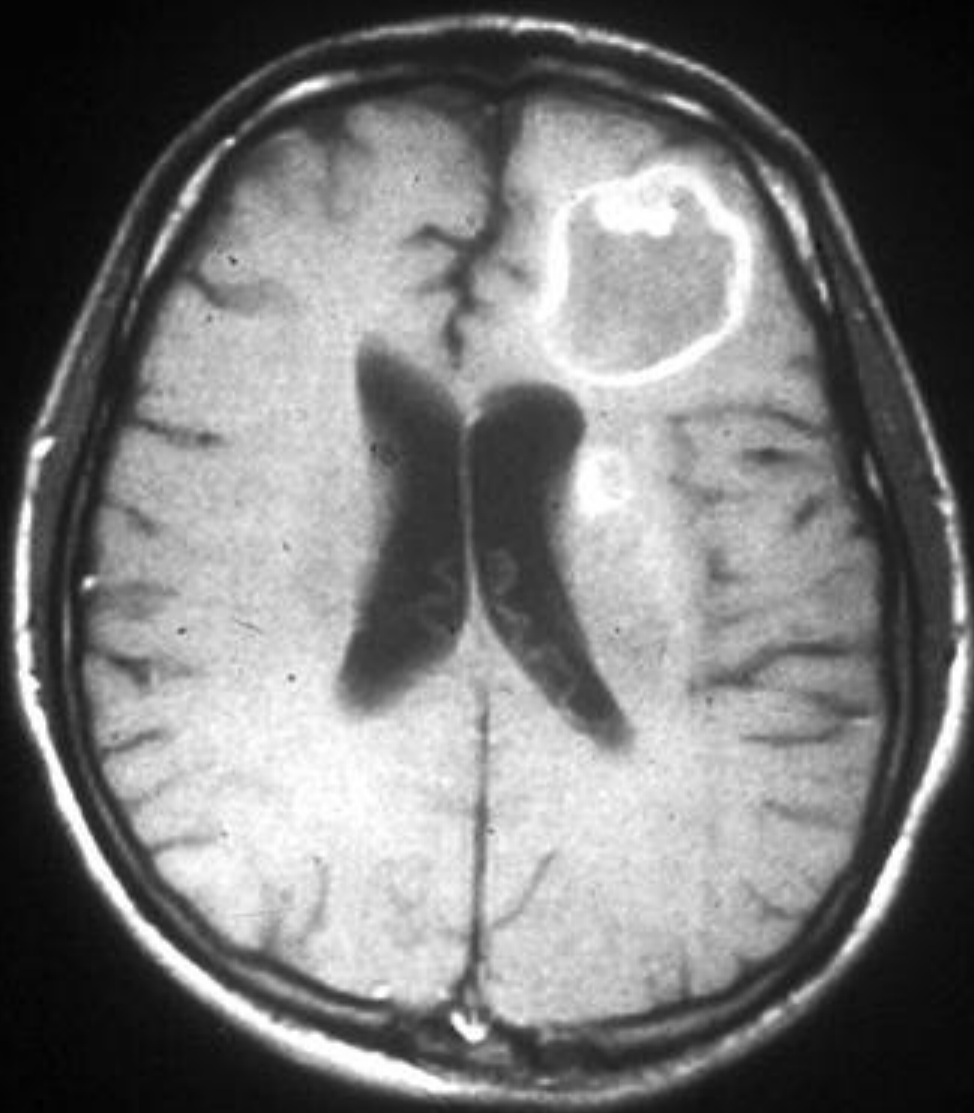
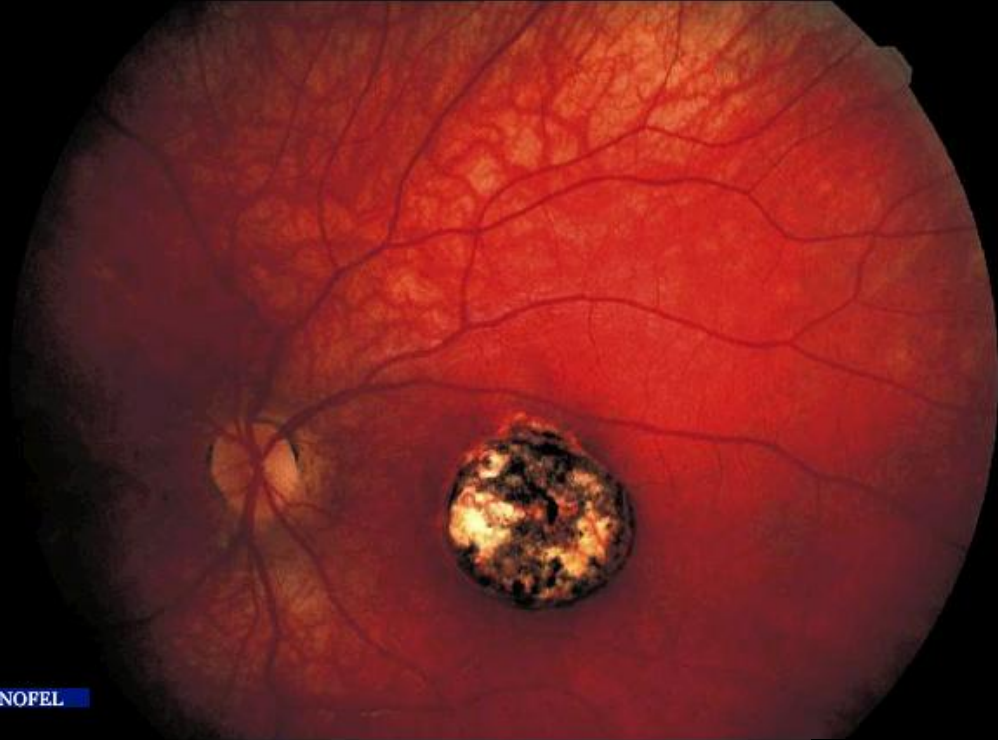
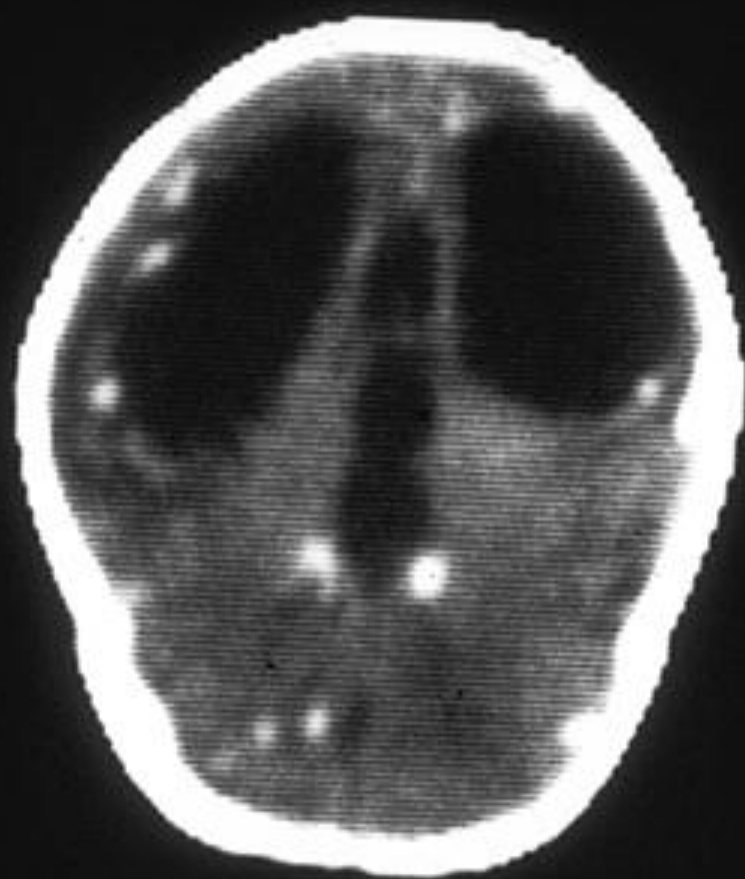
- **neonato (toxoplasmosi congenita):**
  - in circa 1/3 delle infezioni primarie contratte in gravidanza o nei 3 mesi precedenti;
  - il rischio di trasmissione (10% 70%) è inversamente correlato alla severità delle manifestazioni;
  - può manifestarsi alla nascita o nei primi anni di vita; lesioni retiniche e cerebrali;

ES
500/
BASC

ANT
POS I
THE
PHI

EPA
ESP
DST+
CHP 2
REC
MAT
NEX

D

G

diagnosi microbiologica...

✓ indagini sierologiche: rilevazione IgG e IgM specifiche (EIA):

IgG + / IgM - : immunità specifica acquisita;

× se donna gravida: esclude infezione primaria negli ultimi 6 mesi; se nel I trimestre non c'è rischio di trasmissione al feto;

IgG - / IgM - : assenza di immunità specifica;

× se donna gravida: rischio di infezione primaria → adozione di misure di profilassi;

IgG - / IgM + : possibile infezione recente;

× se donna gravida: - escludere falsa positività; ripetizione del dosaggio a distanza di 2-3 settimane:

↙	↘
IgG -	IgG +
↓	↓
verosimile false IgM	sieroconversione

IgG + / IgM + : possibile infezione recente;

- se donna gravida: - escludere falsa positività;
  - escludere IgM persistenti;

"saggio di avidità delle IgG" : valutazione della forza del legame Ag/Ab, espressione della maturazione delle IgG e quindi della durata dell'infezione;

il risultato viene espresso in % :

> 25% (alta avidità, Ab/Ag stabili, esclusione infezione contratta nei 3 mesi precedenti);

< 10% (bassa avidità, possibile infezione nei 3 mesi precedenti;

- ✓ indagini sierologiche neonatali: rilevazione di IgG, IgM e nel sangue neonatale ed eventuale confronto tramite W.B. con gli Ab materni.

- ✓ ricerca diretta tramite PCR: su liquido amniotico;
  diagnosi in pz. immunodepressi;

dal punto di vista terapeutico:

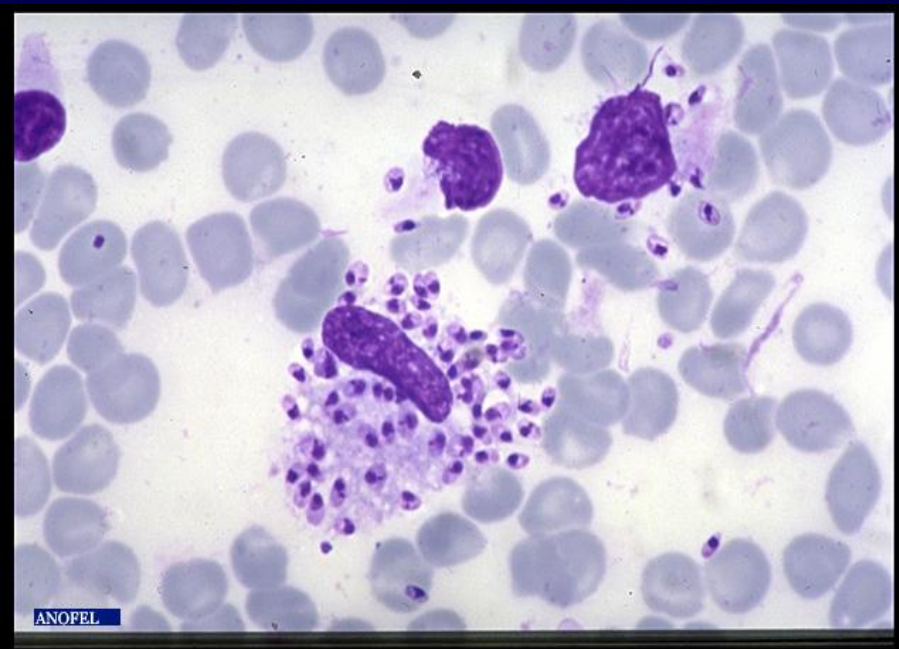
chemioterapia in caso di:

- infezione acuta in gravidanza;
- infezione in immunocompromessi;
- corioretinite;
- neonati sintomatici;

associazioni di antifolici: pirimetamina + sulfadiazina

macrolidi: spiramicina / claritromicina /azitromicina

LEISHMANIOSI

Insieme di quadri patologici molto eterogenei dal punto di vista clinico ed epidemiologico, sostenuti da protozoi appartenenti al genere *Leishmania.*

- problemi classificativi…

complesso *L. donovani* (subcontinente indiano, Africa orientale)

complesso *L. infantum* (bacino del Mediterraneo; Medio Oriente; Asia centrale; Brasile)

complesso *L. tropica* (Medio Oriente; Asia Centrale; Africa orientale)

complesso *L. aethiopica* (Africa orientale)

complesso *L. major* (Africa, Medio Oriente, Asia centrale)

complesso L. mexicana (America centrale)

complesso L. amazonensis (sudamerica)

complesso L. braziliensis (sudamerica)

complesso L. guyanensis (sudamerica)

EPIDEMIOLOGIA…

- 350 milioni di persone vivono in aree endemiche;
- 2 milioni di nuovi casi / anno:

  1.5 milioni LC (90% in medio oriente, Brasile, Perù)

  500.000 LV (90% in India, Bangladesh, Brasile, Sudan)

…in ITALIA

- *Leishmania infantum* (ceppi viscerotropi e dermotropi);
- incidenza riportata: 200 casi/anno;

zoonosi / antroponosi...

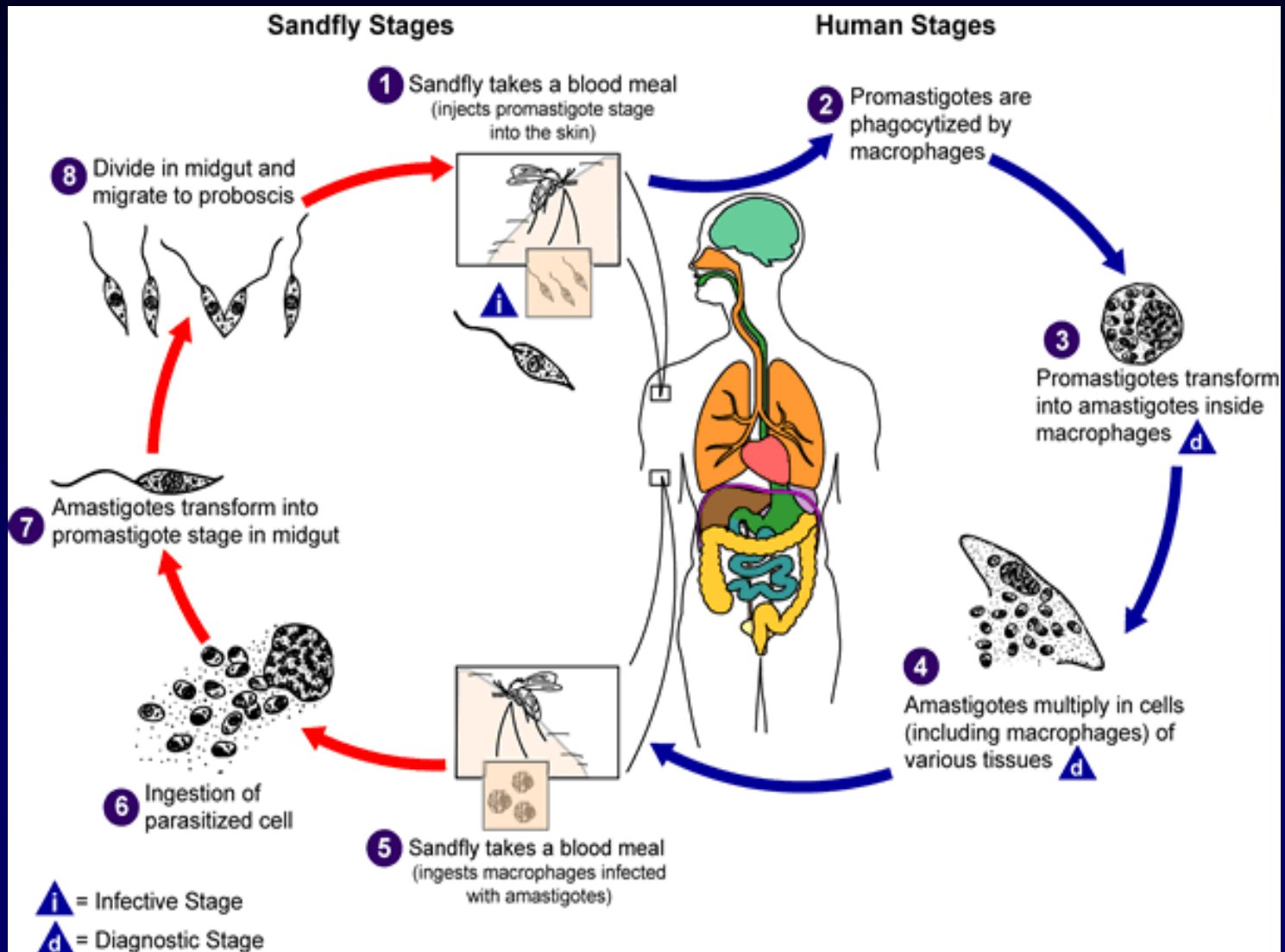
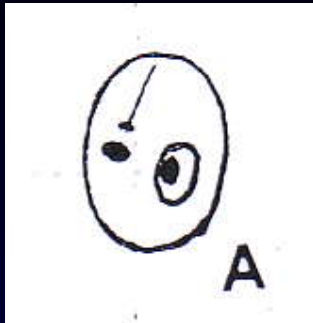
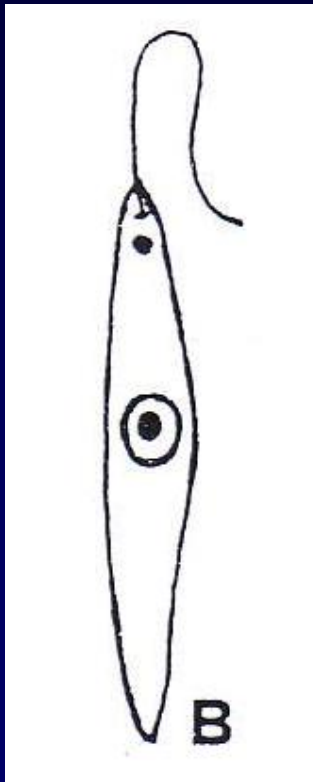
- la maggior parte delle specie di *Leishmania* riconosce, quali ospiti vertebrati, animali selvatici (roditori, volpi, sciacalli) e domestici (cane); per queste, l'uomo rappresenta un ospite accidentale: ZOONOSI

  - LV da *L. infantum* (cane domestico);
  - LC da *L. major* e da *L. aethiopica* (roditori selvatici);
  - LMC da *L. mexicana, braziliensis, guyanensis* (roditori selvatici);

- 2 specie sono antropofiliche e riconoscono solo l'uomo quale ospite vertebrato: ANTROPONOSI

  - LV da *L. donovani;*
  - LC da *L. tropica;*

✗ protozoi flagellati, parassiti obbligati, dixeni

osp. vertebrato (uomo, canidi, roditori) + osp. invertebrato (flebotomi)

- amastigote: nei monociti-macrofagi dell'ospite vertebrato; 2-4µm, ovale con nucleo e cinetoplasto;

- promastigote: nell'intestino del dittero; 15-30µm con nucleo, cinetoplasto e flagello anteriore;

il quadro clinico dipende da:

- complesso di *Leishmania* coinvolto:

dermotropismo o viscerotropismo (differenze anche tra ceppi di uno stesso complesso: es. *L. infantum*);

- stato immunitario dell'ospite:

ceppi normalmente dermotropi possono raggiungere e invadere gli organi profondi in caso di immunocompromissione;

molti casi di infezione rimangono del tutto asintomatici;

in era pre HAART, l'epidemia AIDS ha coinciso con un'incremento dei casi di leishmaniosi viscerale;

Forme cutanee

- “bottone d’Oriente”: nodulo duro che può ulcerare, nel punto di inoculazione del protozoo. Guarigione spontanea nell’arco di 6-12 mesi. Medio Oriente e in India (*L. tropica* e *L. major*); bacino del Mediterraneo (ceppi dermotropi di *L. infantum*);

- “forma cutanea diffusa”: disseminazione delle lesioni nodulari su tutta la superficie corporea. L’esito è spesso infausto. Etiopia e Kenya (*L. aethiopica*);

- “ulcera de los chicleros”: comparsa di un’unica ulcera localizzata al padiglione auricolare. Centro-sud America (*L. mexicana*)

ANOFEL

ANOFEL

Forme muco-cutanee

- " pian bois "
- " espundia "
- " uta "

Centro e Sud America (*L. braziliensis e guyanensis* complex).
La forma più grave è l'espundia in cui sono coinvolte le mucose e le cartilagini rinofaringee;

Forma viscerale

in Africa e in India (“kala-azar” o “febbre nera” da *L. donovani* complex);
bacino del Mediterraneo (Italia compresa, da *L. infantum*);
America del Sud (da *L. infantum).*

iperplasia del sistema monocito-macrofagico a livello di linfonodi, milza, fegato e midollo osseo. (febbre,spleno/epatomegalia, linfoadenopatia, pancitopenia deperimento grave e progressivo).

In assenza di terapia l’esito è infausto

DIAGNOSI

DIRETTA: rilevazione del protozoo (o di antigeni o di DNA) nei campioni bioptici

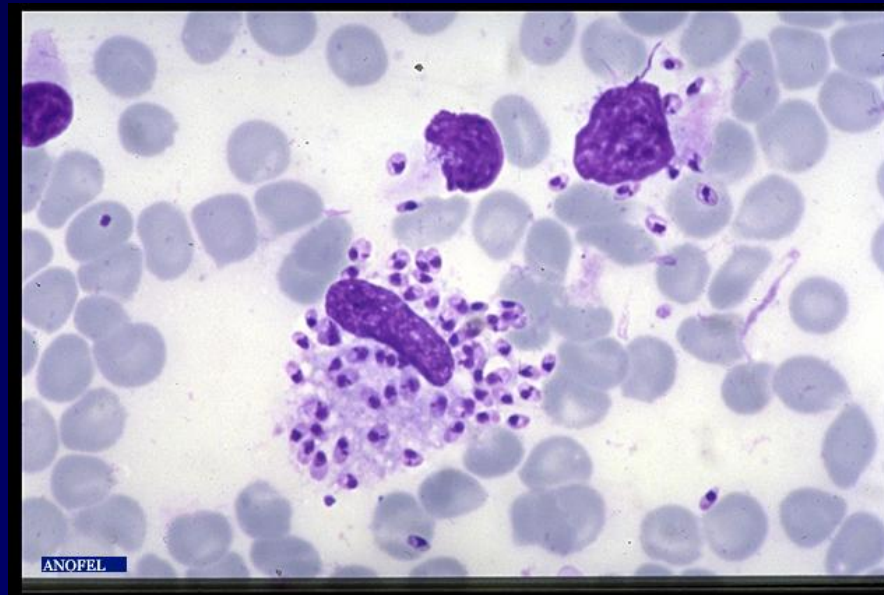
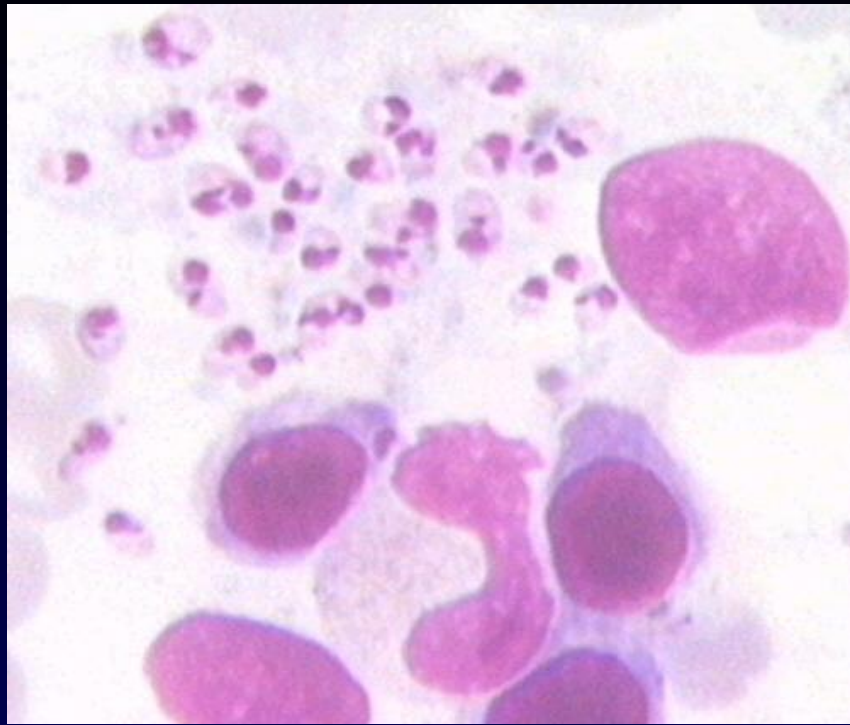
- ESAME MICROSCOPICO (col. di Giemsa) di:
  - biopsie o agoaspirati delle ulcere (forme cutanee);
  - puntato midollare } forme viscerali
  - biopsia epatica o linfonodale

Vanno ricercati gli amastigoti all'interno e fuori dei macrofagi.

- ESAME COLTURALE: inoculo di biopsie midollari, spleniche, epatiche e cutanee in terreni liquidi;

- SAGGI MOLECOLARI

- RILEVAZIONE DI ANTIGENI URINARI (LV)

ANOFEL

INDIRETTA: rilevazione di anticorpi specifici

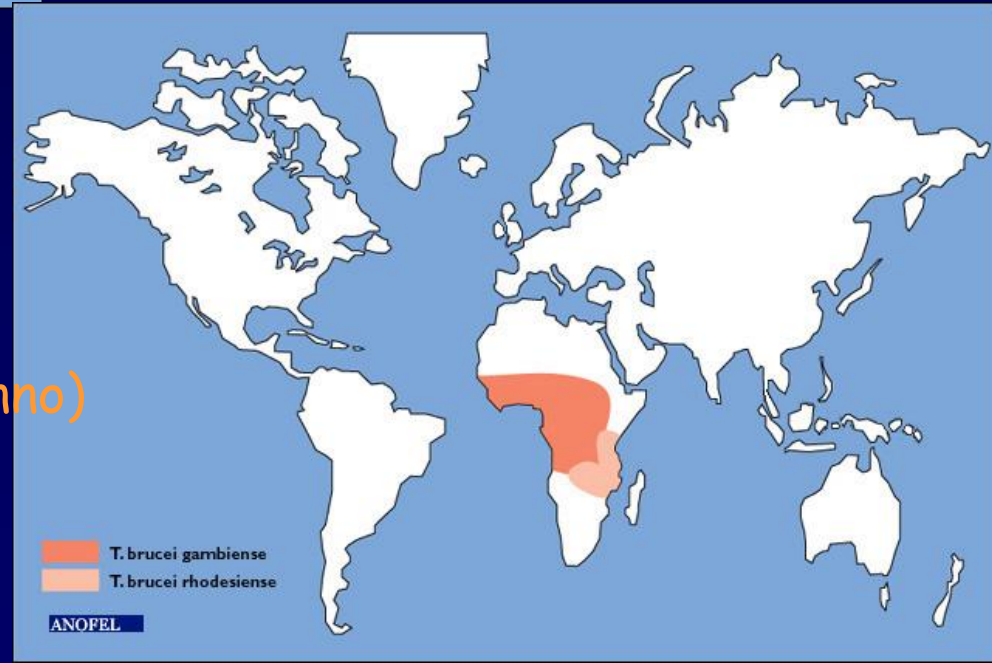
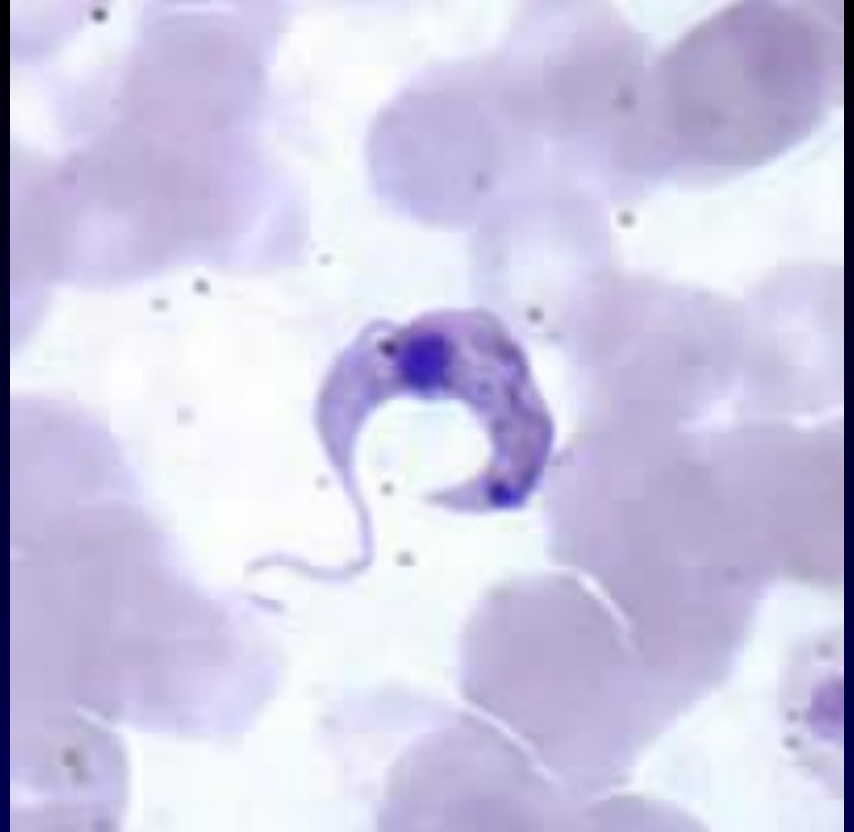
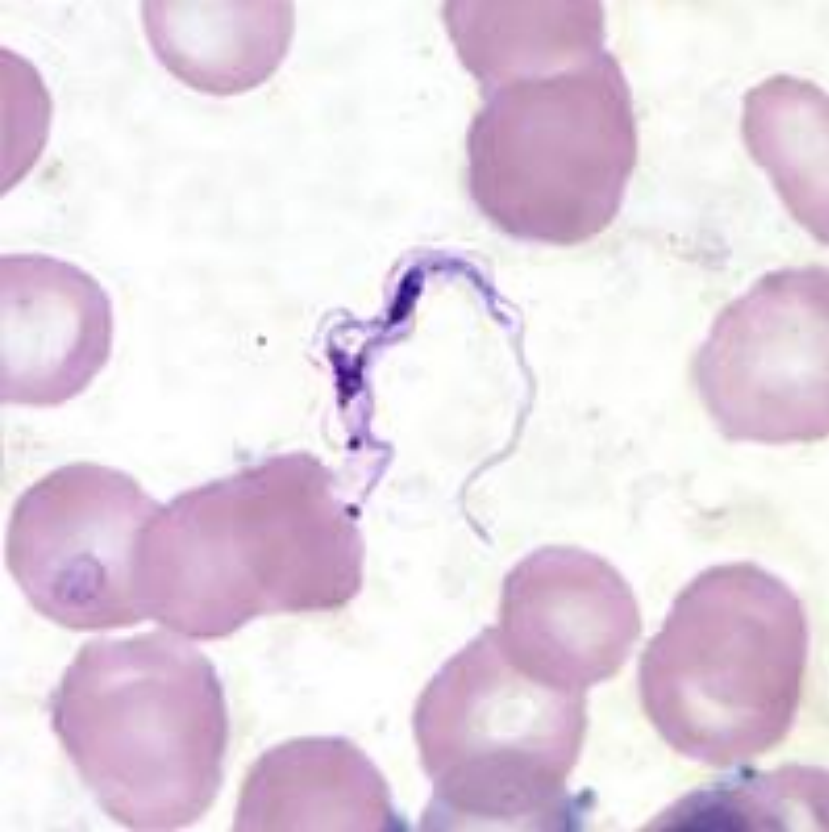
- ha valore diagnostico nelle forme viscerali;
- non sono applicabili ai pazienti immunocompromessi;

- DAT (Direct Agglutination Test)
- IFA
- ELISA

TRIPANOSOMIASI

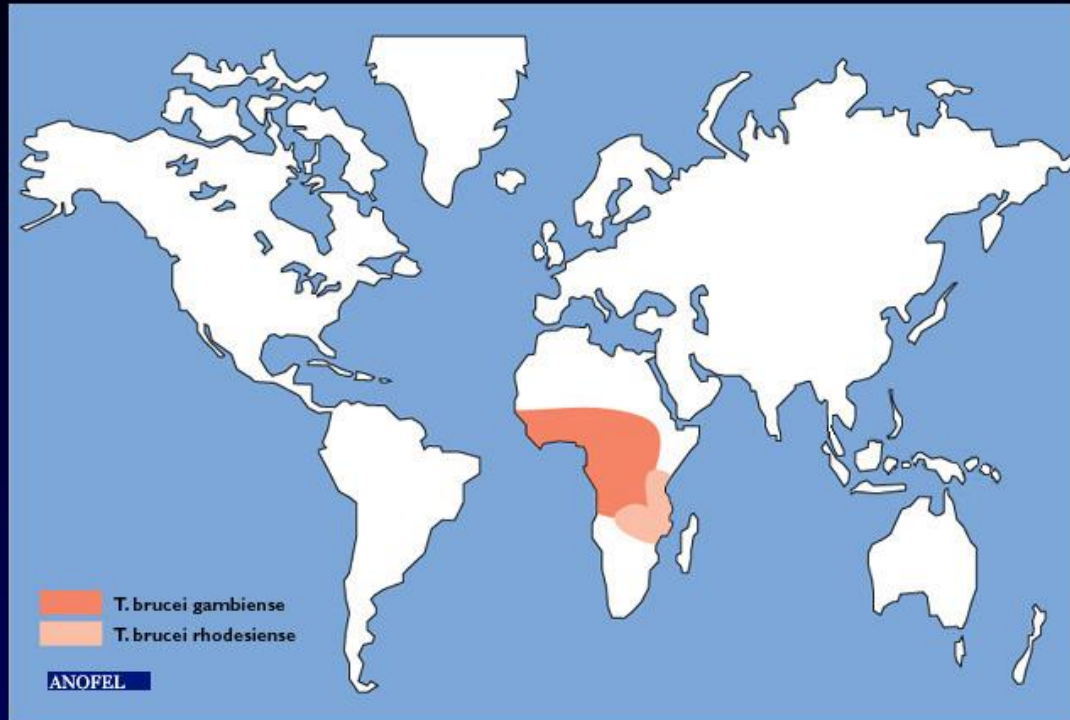
ANOFEL

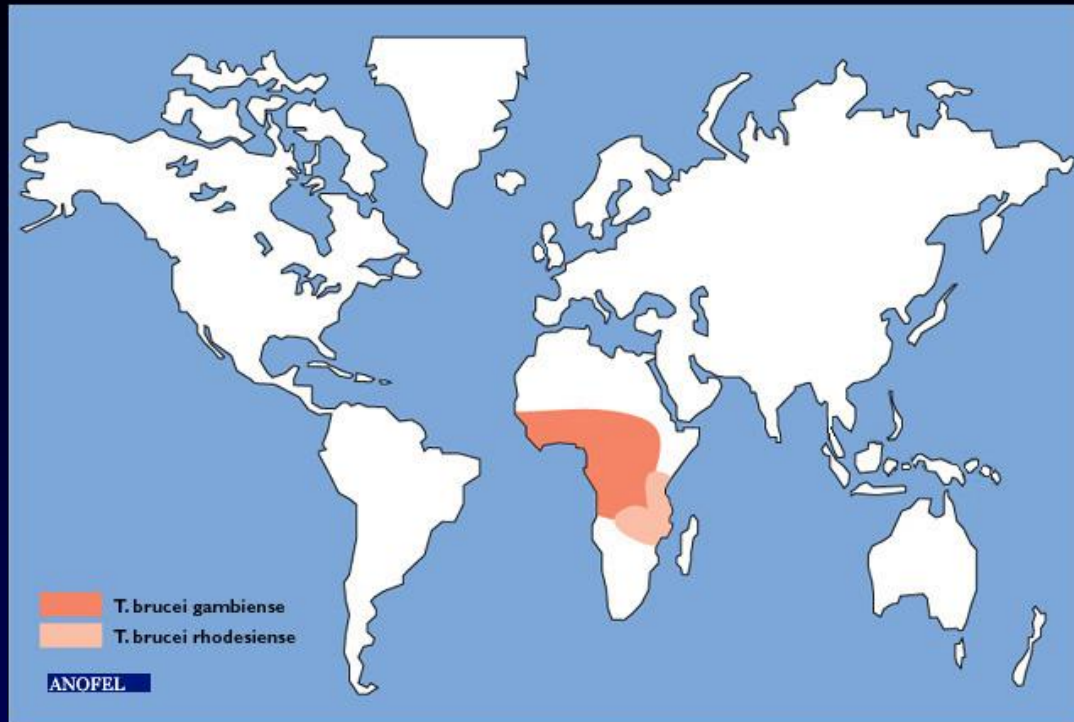
Tripanosomiasi americana (m. di Chagas)

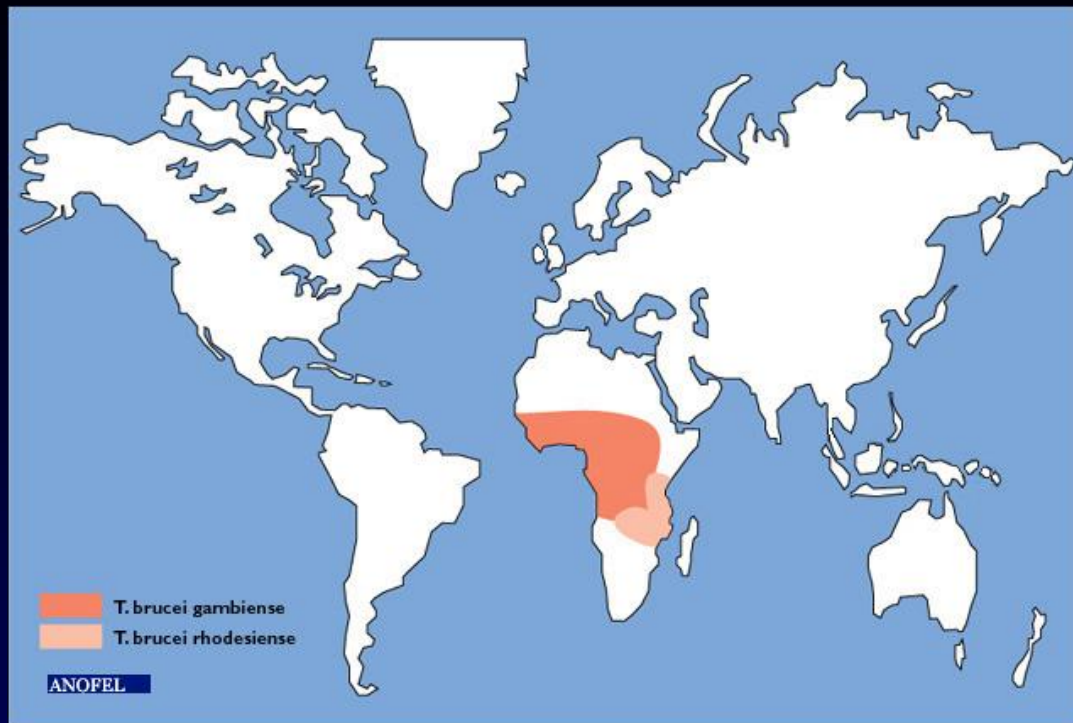
Tripanosomiasi africana (mal. del sonno)

Trypanosoma brucei gambiense / rhodesiense

Tripanosoma cruzi

Parassita obbligato dixeno: osp. invertebrato (vettore) + osp. vertebrato

Tripanosomiasi africana (mal. del sonno)

Trypanosoma brucei gambiense

il vettore è *Glossina palpalis* diffusa soprattutto in ambienti umidi, ricchi di vegetazione (piantagioni vicine ai villaggi); specie antropofila: l'uomo è l'unico serbatoio di infezione (antroponosi)

Trypanosoma brucei rhodesiense

il vettore è *Glossina morsitans*, diffusa soprattutto nell'ambiente secco della savana; specie zoofila: serbatoio d'infezione sono animali selvatici; l'uomo è un ospite accidentale (antropozoonosi).

"il peso epidemiologico" delle 2 forme è molto diverso:

- *T. b. gambiense*: aree di elevata endemia (Uganda) con focolai epidemici;
- *T. b. rhodesiense*: forma sporadica; caciatori, turisti,

Tsetse fly Stages

Human Stages

1 Tsetse fly takes a blood meal (injects metacyclic trypomastigotes)

2 Injected metacyclic trypomastigotes transform into bloodstream trypomastigotes, which are carried to other sites.

3 Trypomastigotes multiply by binary fission in various body fluids, e.g., blood, lymph, and spinal fluid.

4 Trypomastigotes in blood

5 Tsetse fly takes a blood meal (bloodstream trypomastigotes are ingested)

6 Bloodstream trypomastigotes transform into procyclic trypomastigotes in tsetse fly's midgut. Procyclic tryposmatigotes multiply by binary fission.

7 Procyclic trypomastigotes leave the midgut and transform into epimastigotes.

8 Epimastigotes multiply in salivary gland. They transform into metacyclic trypomastigotes.

i = Infective Stage

d = Diagnostic Stage

15 - 35 µm

- replicazione è extracellulare;

- rapida variazione antigenica della VSG (glicoproteina variabile di superficie): escape immunologico alla base delle fluttuazioni cicliche della parassitemia);

✦ prima fase di disseminazione linfoematogena (linfonodi; milza; cuore)

✦ fase di invasione del sistema nervoso centrale:

- infiltrato linfo-plasmocitario perivascolare;
- flogosi meningea;
- aree di demielinizzazione della sostanza bianca sottocorticale;

✦ differenze nell'evoluzione:

- tripanosomiasi da T.b. gambiense ha un decorso molto lungo: nella prima fase: da febbre irregolare, linfoadenopatia splenomegalia; a distanza di alcuni mesi (fino a qualche anno), segue la fase tardiva: invasione del SNC (alterazioni psichiche motorie e sensoriali. Segue uno stato di coma nella fase terminale.

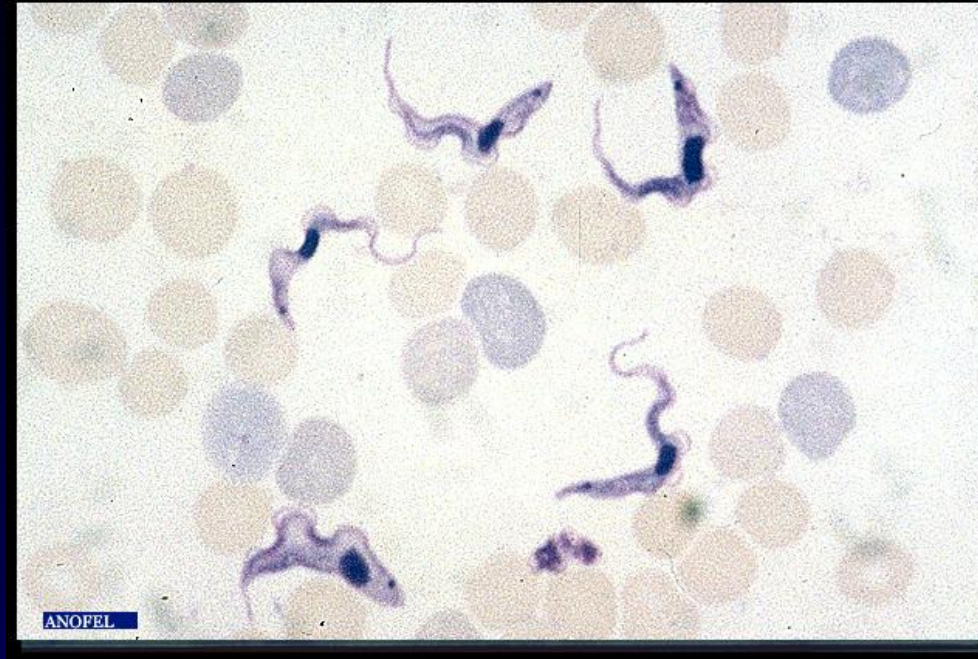
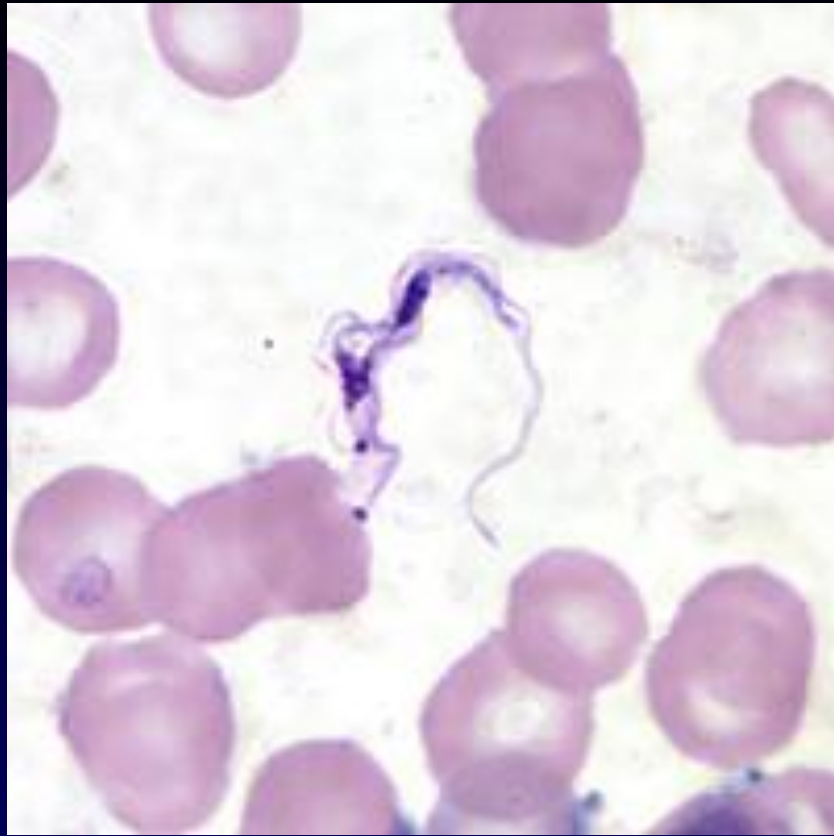
- tripanosomiasi da T.b. rodhesiense ha un decorso rapido: l'esordio è brusco: febbre elevata, linfoadenopatia generalizzata e coinvolgimento cardiaco; l'interessamento neurologico è rapido (qualche mese). Nell'80% dei casi il decesso sopravviene entro 6 mesi dall'esordio.

diagnosi

- L'efficacia della terapia è legata alla somministrazione nella prima fase;
- i farmaci utilizzati nella fase di compromissione neurologica sono molto tossici (derivati arsenicali) e i danni cerebrali sono solo parzialmente reversibili.

L'approccio diagnostico "sul campo", prevede:

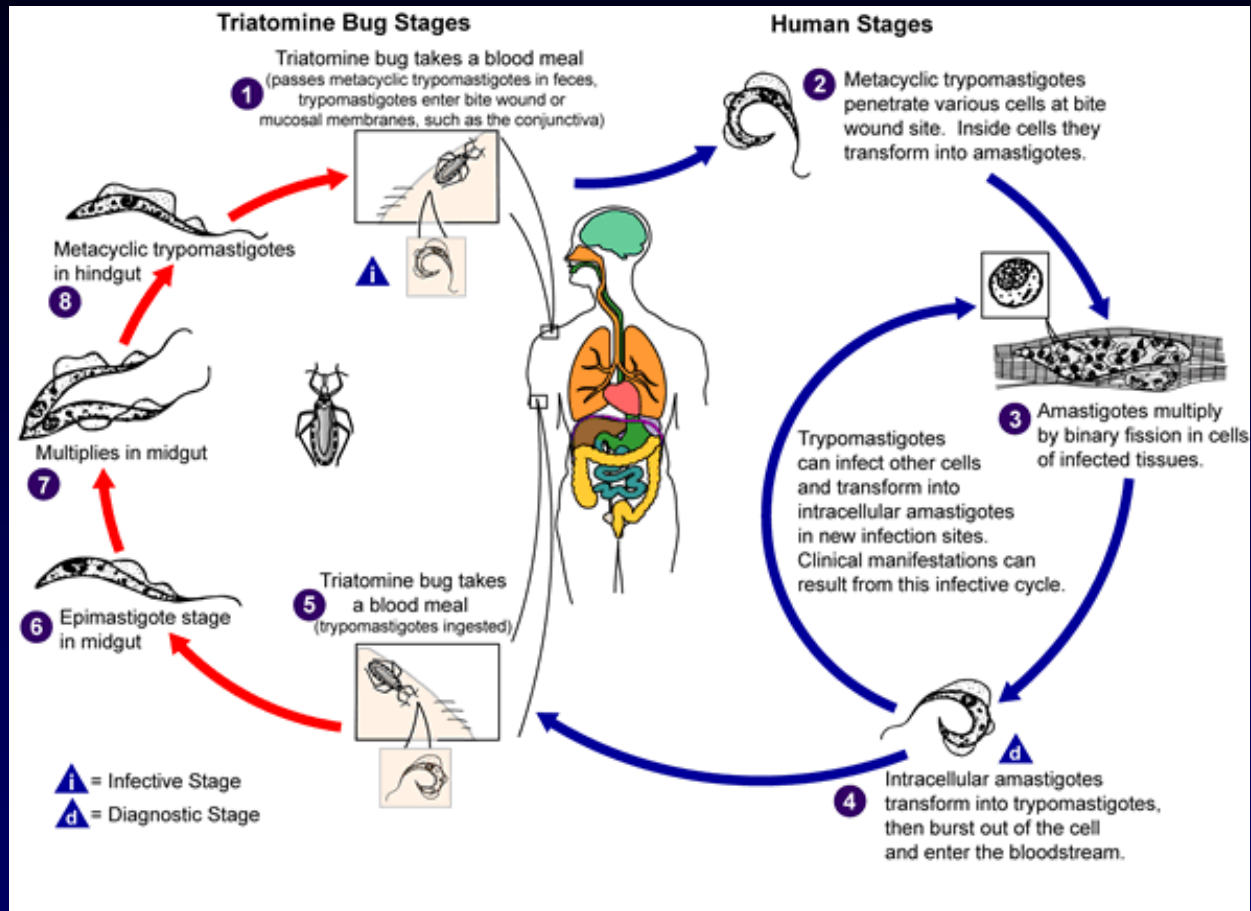
- screening (ricerca diretta; test sierologici)
- stadiazione della malattia: esame chimico-fisico e microbiologic del liquor; test sierologici su liquor;

In aree non endemiche è una diagnostica estremamente rara: nel resto mondo si registrano annualmente circa 50 casi)

Tripanosomiasi americana (m. di Chagas)

Trypanosoma cruzi

I vettori sono varie specie di triatomine (cimici ematofaghe), diffuse in ambienti rurali degradati; oltre all'uomo, vari animali domestici e selvatici rappresentano serbatoio d'infezione (antropozoonosi);

"endemia urbana": per trasfusione di sangue infetto (il 10-30% dei donatori risulta infetto)

- 25% della popolazione dell'America Latina è a rischio;
- 16 - 18 milioni i soggetti infetti; (10% va incontro alla forma cronica);

i tripomastigoti vengono fagocitati dai macrofagi dove, come amastigoti, si moltiplicano; in forma flagellata invadono il circolo e penetrano nelle fibre muscolari dei muscoli scheletrici, del cuore e della muscolatura liscia di esofago e del colon dove si replicano ancora.

La malttia di Chagas può decorrere in modo del tutto asintomatico (importanza dello screening dei donatori)

Forma acuta : si osserva soprattutto nei bambini; al nodulo cutaneo che compare nel punto di penetrazione (o all'edema palpebrale monolaterale) seguono: linfoadenopatia diffusa, epato/splenomegalia, febbre, aritmie. La mortalità è del 5-10%;

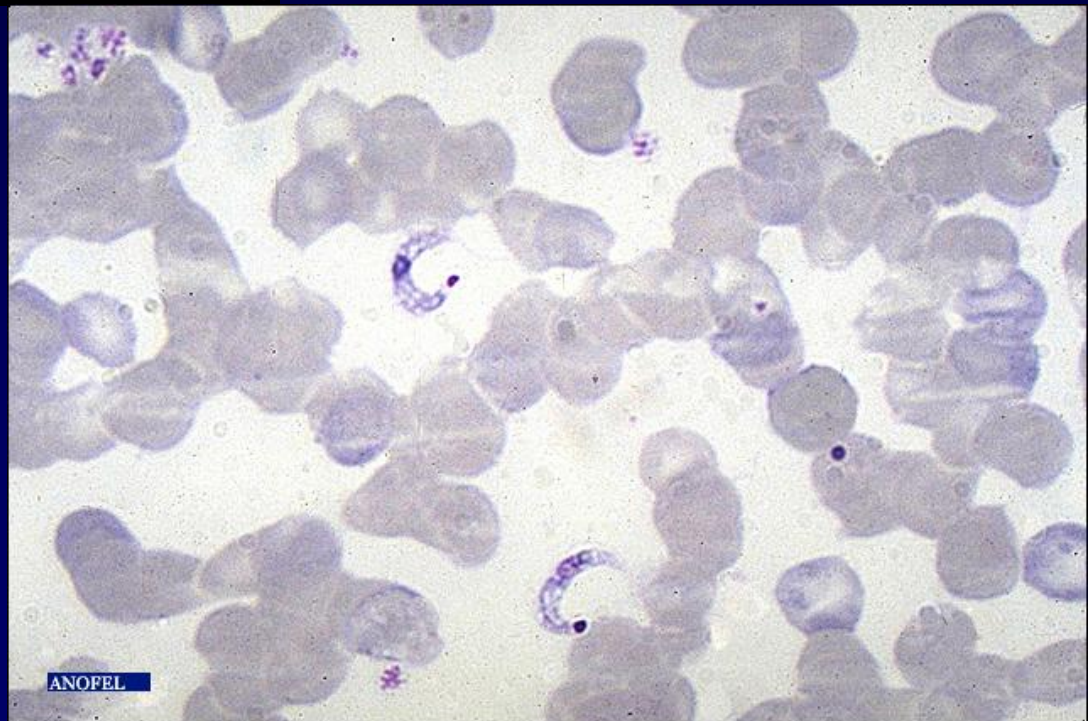
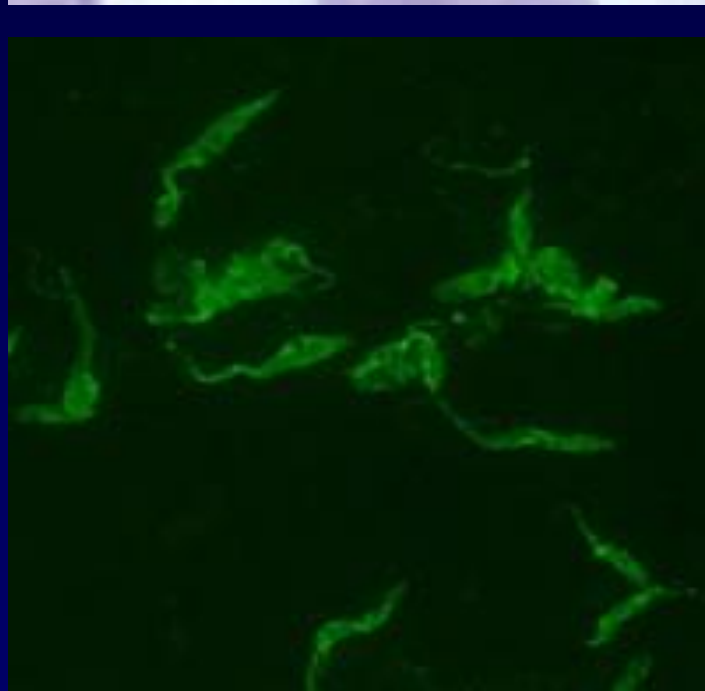
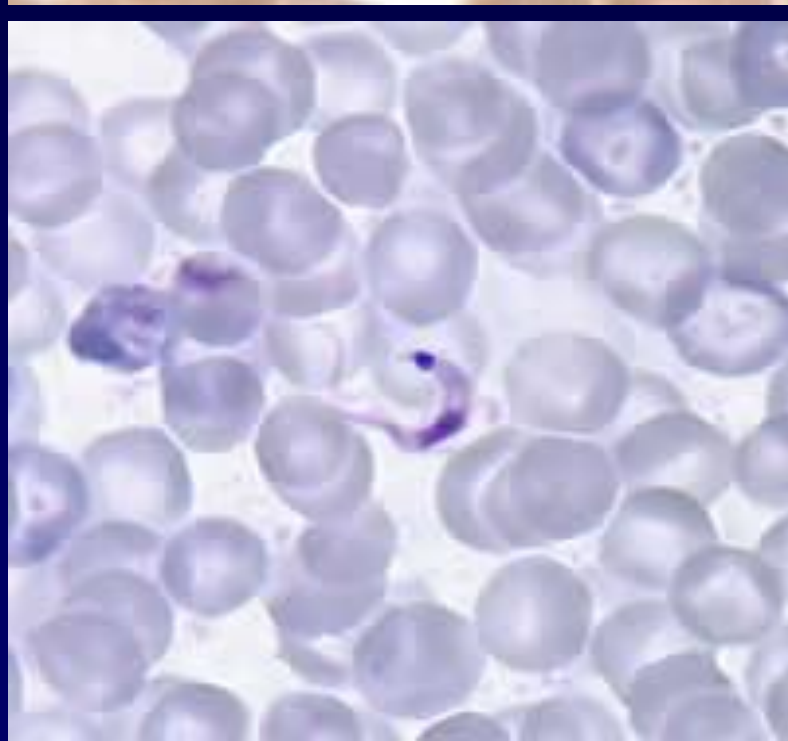
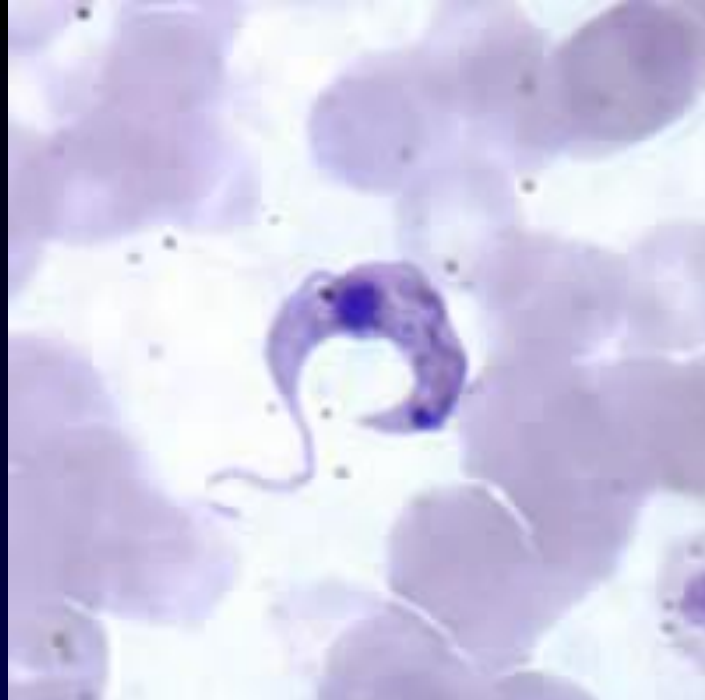
Forma cronica : nel 25% dei casi, dopo una fase di latenza di 10-20 anni, si manifesta la forma cronica, caratterizzata da: cardiomiopatia, megaesofago e megacolon.

diagnosi

va effettuata nei pazienti provenienti da aree endemiche

- fase acuta : ricerca dei tripomastigoti su sangue periferico (rara)
- fase cronica : ricerca sierologica (screening donaz ioni): EIA; IFA

ANOFEL

ANOFEL

ORMAI
É STATO
GIÀ DETTO
TUTTO.
TRANQUILLO,
NESSUNO
ASCOLTAVA.
ROUGE
261